Untersuchungen zur Diagnostik schnellwachsender atypischer Mykobakterien

Günter Staudacher

1970

Aus dem Institut für Mikrobiologie und Infektionskrankheiten der Tiere
der Universität München
Vorstand: Professor Dr. A. M a y r

UNTERSUCHUNGEN ZUR DIAGNOSTIK SCHNELLWACHSENDER ATYPISCHER MYKOBAKTERIEN

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

zur Erlangung der veterinär-medizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Günter Staudacher
aus
Wangen/Allgäu

München 1970

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen
Fakultät der Universität München

Dekan:	Prof.Dr. I.Gylstorff
Referent:	Prof.Dr. Th.Schliesser
Korreferent:	Prof.Dr. E.Dahme
Tag der Promotion:	9. Juli 1970

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

M E I N E N E L T E R N

I N D A N K B A R K E I T

G E W I D M E T

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

		Seite
I.	EINLEITUNG	1
II.	LITERATUR	
	A) Die schnellwachsenden atypischen Mykobakterien	2
	B) Zur Differenzierung schnellwachsender Mykobakterien	4
	C) Aufstellung eines Diagnostikschlüssels für schnellwachsende Mykobakterien	11
III.	EIGENE UNTERSUCHUNGEN	
	A) Material	15
	B) Methodik	16
	C) Untersuchungsgang	22
	D) Untersuchungsergebnisse	
	1) Direkter Vergleich der untersuchten Merkmale	22
	2) Differenzierung und Bestimmung der Stämme	32
IV.	BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE	53
V.	ZUSAMMENFASSUNG (deutsch und englisch)	57
VI.	LITERATURVERZEICHNIS	59
	Lebenslauf	

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

		Seite
I.	EINLEITUNG	1
II.	LITERATUR	
	A) Die schnellwachsenden styptischen Myxobakterien	2
	B) Zur Differenzierung schnellwachsender Myxobakterien	7
	C) Aufstellung eines Diagnostikschlusses für schnellwachsende Myxobakterien	11
III.	EIGENE UNTERSUCHUNGEN	
	A) Material	13
	B) Methodik	16
	C) Untersuchungsgang	20
	D) Untersuchungsergebnisse	
	1) Direkter Vergleich der untersuchten Merkmale	22
	2) Differenzierung und Bestimmung der Stämme	23
IV.	BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE	24
V.	ZUSAMMENFASSUNG (deutsch und englisch)	27
VI.	LITERATURVERZEICHNIS	29
	Lebenslauf	

I. EINLEITUNG

Die sogenannten atypischen Mykobakterien haben in den letzten Jahren innerhalb der Gruppe der Mykobakterien immer mehr Bedeutung erhalten. Dies hat im wesentlichen drei Gründe:

Einzelne atypische Mykobakterien-Spezies wurden in den letzten Jahren als Ursache tuberkuloseähnlicher Erkrankungen bei Menschen und Tieren festgestellt und müssen daher als fakultativ pathogen gelten.

Neben der fakultativen Pathogenität einzelner Spezies ist ferner die sensibilisierende Wirkung der atypischen Mykobakterien von Bedeutung, durch die es bei Tuberkulinproben zu parallergischen Reaktionen kommen kann.

Als drittes sind die Schwierigkeiten zu nennen, bei Mischinfektionen zwischen M. tuberculosis, M. bovis oder M. avium und solchen atypischen Mykobakterien die beteiligten Spezies zu differenzieren und damit zu diagnostizieren. Eine genaue Differenzierung atypischer Mykobakterien ist daher Voraussetzung für eine rasche Diagnostik der Mykobakteriosen.

Als Beitrag zur Diagnostik schnellwachsender atypischer Mykobakterien war es meine Aufgabe, 81 im Institut isolierte schnellwachsende Mykobakterienstämme zu untersuchen, zu differenzieren und ihre Spezies-Zugehörigkeit festzustellen.

II. L I T E R A T U R

A.) DIE SCHNELLWACHSENDEN ATYPISCHEN MYKOBAKTERIEN

Die Zusammenfassung aller Mykobakterien, die nicht mit den bekannten "klassischen" Tuberkulose-, Paratuberkulose und Lepraerregern identisch waren, unter der Bezeichnung "atypische Mykobakterien" mußte zwangsweise die Frage einer weiteren Unterteilung bzw. Systematik dieser "Mykobakterien-Abteilung" aufwerfen, als die Zahl der isolierten atypischen Mykobakterien immer größer wurde. Runyon hat 1955 eine Unterteilung der atypischen Mykobakterien nach den beiden Kriterien Pigmentierung und Wachstumsgeschwindigkeit in 4 Gruppen vorgeschlagen; diese Einteilung ist heute zumindest als Arbeitsgrundlage gebräuchlich.
In der Gruppe 4 dieser Einteilung nach Runyon sind dabei alle schnellwachsenden Mykobakterien - die pigmentierten und nichtpigmentierten - zusammengefaßt.

Spezies - Einteilung

Aus der großen Zahl der isolierten schnellwachsenden Mykobakterien-Stämme wurden bis heute 11 verschiedene Spezies beschrieben:
Die Spezies M. MARINUM wurde von Aronson (1) 1926 beschrieben. Die Stämme dieser Spezies waren von ihm aus Salzwasserfischen isoliert worden. Die Spezies M. BALNEI erwies sich als identisch mit M. MARINUM, und daher schlug Bojalil (15) 1960 als gemeinsame Bezeichnung M. MARINUM vor. Da M. MARINUM etwas langsamer wächst als die übrigen Spezies, ist seine Zuge-

hörigkeit zu den schnellwachsenden Mykobakterien noch umstritten (Tsukamura, 30).
1929 beschrieb Aronson (2) eine weitere Kaltblütlerspezies, die er aus Schlangen isoliert hatte, und bezeichnete sie als M. THAMNOPHEOS.
1938 veröffentlichte Cruz (18) seine Beschreibung der Spezies M. FORTUITUM. Diese Beschreibung wurde 1955 von Gordon und Smith (21) erweitert. Mit dieser Spezies erwiesen sich verschiedene zuvor und danach beschriebene Spezies identisch: der 1905 von Küster (24) beschriebene Forschtuberkelbazillus, den Bergey's Manual of Determinative Bacteriologie 1923 als M. RANAE bezeichnete (Stanford und Gunthorpe, 27), Pensos M. MINETTI und Darzins M. GIAE (Szabó und Vandra, 28). Über die gemeinsame Bezeichnung dieser Spezies wird noch diskutiert; Stanford und Gunthorpe (27) schlugen 1969 vor, für M. FORTUITUM wieder die Bezeichnung M. RANAE einzuführen.
1953 beschrieben Gordon und Smith (20) die aus Isolierungen Lehmanns und Neumanns stammenden Spezies M. PHLEI und M. SMEGMATIS.
Bönicke führte zwischen 1963 und 1965 drei neue Spezies ein: 1963 M. VACCAE (9), isoliert aus der Umgebung des Rindes und auch aus Milch, 1965 M. BORSTELENSE (10, 11) mit der Subspezies M. BORSTELENSE VAR. NIACINOGENES, aus Magenspülwasser und Sputum tuberkulosekranker Patienten verschiedener Tuberkulose-Heilstätten isoliert, sowie ebenfalls 1965 M. DIERNHOFERI (12), wie M. VACCAE aus der Umgebung des Rindes isoliert, doch nicht aus der Milch.
Tsukamura (29) beschrieb 1966 eine Spezies, die M. FORTUITUM insgesamt sehr ähnlich war, sich in einigen wesentlichen Eigenschaften jedoch deutlich unterschied, und bezeichnete sie als M. PARAFORTUITUM. Im selben Jahr veröffentlichte Tsukamura (30) die Beschreibung der von ihm aus Bodenproben isolierten Spezies M. AURUM.

Kazda (22) differenzierte aus Stämmen, die er aus pathologisch unveränderten Organen von Hennen und aus Teichwasser, das zum Tränken dieser Hennen benützt wurde, isoliert hatte, eine Spezies und bezeichnete sie 1966 als Spezies M. BRUNENSE.

B.) ZUR DIFFERENZIERUNG SCHNELLWACHSENDER MYKOBAKTERIEN

Differenzierung und Klassifizierung von Bakterienstämmen beruhen auf dem Vergleich der Eigenschaften dieser Stämme untereinander bzw. mit bekannten Spezies. Die zu einem Vergleich verwendeten Merkmale müssen - um Vergleichswerte zu sein - zwei Voraussetzungen erfüllen:
Sie müssen einmal bei allen für den Vergleich in Frage kommenden Stämmen und Spezies geprüft sein, und zum anderen muß die Prüfung immer nach derselben Methode vorgenommen werden, wobei die Ablesung der Ergebnisse nach objektiven Kriterien durchführbar sein muß. Bönicke (14) weist darauf besonders bei der Prüfung der Arylsulphatase-Aktivität hin. Diese Voraussetzungen wurden bei der Klassifizierung schnellwachsender Mykobakterien häufig nicht genügend erfüllt. Ein Vergleich der Speziesbeschreibungen von Bergey's Manual of Determinative Bacteriologie (3), Gordon und Smith (20, 21), Bönicke (9, 10, 11, 12) und Tsukamura (29, 30) ergibt, daß immer wieder neue oder andere Methoden als Grundlage der Differenzierungen benützt wurden. Außerdem waren selbst bei Verwendung im Prinzip gleicher Verfahren die methodisch-technischen Voraussetzungen nur selten einheitlich. Kazda (22) trug

dieser Voraussetzung, den Vergleich schnellwachsender Mykobakterien-Spezies mit wirklichen Vergleichswerten durchführen zu können, bei der Differenzierung der von ihm isolierten Stämme und ihrer Klassifizierung als Spezies M. BRUNENSE Rechnung. Er unterzog alle Spezies, die seiner Meinung nach für einen Vergleich mit seinen Stämmen in Frage kamen, allen von ihm angewandten Untersuchungen.
Diese Methode Kazda's (22), die man als "direkten" Vergleich bezeichnen kann, ist die eine mögliche und für eine echte Klassifizierung durchaus geeignete Lösung dieser Problematik.
In der Routinediagnostik kann dieses "direkte" Verfahren des Vergleichs aber nicht angewandt werden. Hier kommt nur die Möglichkeit eines "indirekten" Vergleichs, der sich allerdings an den grundlegenden Vergleichswerten der "direkten" Klassifizierung orientiert, in Frage.
Betrachtet man die vergleichenden Beschreibungen von Kazda (22), Tsukamura (30), Bönicke (14), Cerbón und Trujillo (17), sowie die Spezies-Beschreibungen von Bergey's Manual of Determinative Bacteriologie (3), Gordon und Smith (20, 21), Bönicke (9, 10, 11, 12), Tsukamura (29, 30) sowie Stanford und Gunthorpe (27) auf solche grundsätzliche Vergleichswerte, so zeigt sich zunächst, daß sich die zur Differenzierung, Klassifizierung und Diagnostik verwendeten Kriterien in 6 Gruppen einteilen lassen:

1) makroskopisches Aussehen
2) Wachstum unter verschiedenen Bedingungen
3) enzymatische Fähigkeiten
4) Chemosensibilität
5) Phagensensibilität
6) Pathogenität

Den Kriterien der Gruppen 1, 2 und 3 kommt dabei von ihrer Vielfalt, von den technischen Anforderungen

und vom Wert der Ergebnisse her besondere Bedeutung zu. Klammert man die bisher nur von Tsukamura (29, 30) beschriebenen Spezies M. PARAFORTUITUM und M. AURUM aus, so entspricht die Zahl der in diesen 3 Gruppen enthaltenen Kriterien, für die für alle Spezies Vergleichswerte vorhanden sind, den von Kazda (22) zusammengestellten 49 Kriterien. Sucht man in diesen 3 Gruppen dagegen nach übereinstimmenden Kriterien einschließlich der beiden Spezies M. PARAFORTUITUM und M. AURUM, so sinkt ihre Zahl auf 27. Zu diesen 49 bzw. 27 Kriterien können aus den jeweiligen Erstbeschreibungen die Pigmentierung und die Kulturmorphologie hinzugezählt werden.

Vergleicht man die gesamten Ergebnisse, die die obengenannten Autoren bei der Prüfung der 11 schnellwachsenden Mykobakterien-Spezies auf diese 49 bzw. 27 Kriterien hin ermittelten, und bezeichnet man die Ergebniswerte, für die in den verschiedenen Beschreibungen sowohl +Werte als auch -Werte zu finden sind, mit ±, so ergibt sich das Bild der Tabelle 1.

Auf den ersten Blick scheinen dies genügend Kriterien zu sein, um 11 verschiedene Spezies zu differenzieren. Betrachtet man jedoch die Ergebnisse bei den einzelnen Spezies genauer, so zeigt sich, daß gegenüber 19 bzw. 8 Kriterien sich alle Spezies gleich verhalten oder zumindest verhalten können, was die ±Werte betrifft, und diese Kriterien somit für eine Differenzierung nicht in Frage kommen. Von den übrigen 30 bzw. 19 Kriterien stimmen nur bei 5 Kriterien alle Ergebniswerte überein. Bei jeder Spezies können im Durchschnitt 6 der 30 Kriterien sowohl ein positives als auch negatives Ergebnis zeigen. Kein einziges Kriterium ist ausschließlich für nur eine Spezies charakteristisch.

Tabelle 1: Eigenschaften schnellwachsender Mykobakterienarten
(zusammengestellt nach Literaturangaben)

Eigenschaften:	M. MARINUM	M. THAMNOPHEOS	M. FORTUITUM	M. PHLEI	M. SMEGMATIS	M. VACCAE	M. BORSTELENSE	M. DIERNHOFERI	M. PARAFORTUITUM	M. AURUM	M. BRUNENSE
Wachstum bei 20°C	+	+	+	+	+	±	+	±			+
Wachstum bei 29°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Wachstum bei 37°C	±	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Wachstum bei 42°C	–	–	±	+	+	–	–	–			+
Wachstum bei 45°C	–	–	±	+	+	–	–	–	+	–	+
Wachstum bei 52°C	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–
Thermores. 60°C/4h	–	–	–	+	–	–	–	–			+
Säurebildung aus:											
Glukose	±	+	+	±	+	+	+	+	+	+	±
Rhamnose	–	–	–	–	+	+	–	–	–	–	–
Xylose	–	–	–	±	+	+	–	+	+	–	–
Arabinose	±	–	–	±	+	±	–	+	+	–	–
Mannose	±	+	+	±	+	+	+	+	+	+	–
Galaktose	±	±	–	±	+	–	–	±	–	–	–
Mannit	–	+	±	±	+	+	–	+	+	±	–
Sorbit	–	±	–	±	+	–	–	–	–	–	–
Inosit	–	–	±	–	+	±	–	+	+	±	–
Dulcit	–	–	–	–	±	–	–	–			–
Laktose	–	–	–	–	–	–	–	–	–		–
Raffinose	–	–	–	–	–	–	–	–	–		–
Maltose	–	±	–	±	±	–	–	–			–
Trehalose	±	+	±	±	+	±	+	±	+	+	–
Laevulose	+	+	±	+	+	+	+	+			–
Saccharose	–	+	–	–	–	+	–	–			–

Fortsetzung Tabelle 1:

Eigenschaften:	M. MARINUM	M. THAMNOPHEOS	M. FORTUITUM	M. PHLEI	M. SMEGMATIS	M. VACCAE	M. BORSTELENSE	M. DIERNHOFERI	M. PARAFORTUITUM	M. AURUM	M. BRUNENSE
Acetamid	−	±	+	±	±	±	−	±	+	±	−
Benzamid	−	−	−	−	+	+	−	−	−	−	−
Harnstoff	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Isonicotinamid	−	−	±	−	+	+	−	−	−	−	−
Nicotinamid	±	±	±	+	+	+	+	+	+	+	+
Pyrazinamid	±	±	±	+	±	+	+	+	+	+	+
Salicylamid	−	−	−	−	±	±	−	−			−
Allantoin	±	+	+	−	±	+	−	−	+	±	+
Succinamid	−	−	±	−	+	±	−	−	−	−	−
Malonamid	−	−	±	−	±	−	−	−			−
Zitrat	+	+	±	+	±	+	+	+	+	±	+
Tartrat	−	−	−	−	−	−	−	−			−
Pyruvat	+	+	+	+	+	+	+	+	±	+	+
Propionat	+	+	+	+	+	+	+	+			+
Benzoat	−	−	−	−	±	+	−	−	−	−	±
Gelatinehydrol.	−	−	−	±	−	−	−	−			−
Kaseinhydrol.	−	−	−	−	−	−	−	−			−
Stärkehydrol.	±	+	+	+	+	+	±	+			+
Tyrosinzerfall	−	−	−	−	−	−	−	−			−
NO_3-Reduktion	±	±	+	+	+	±	±	±	+	−	−
Arylsulphatase	±	−	+	−	−	+	+	−	−	−	−
Diaminoxydase	+	−	+	+	+	+	+	+			−
Pikrinsäurered.	+	±	+	+	+	+	+	+			+
Phosphatase	+	−	+	+	−	+	+	+			−
α-Esterase	−	−	−	+	−	−	+	+			+
β-Esterase	−	−	−	+	−	+	+	+			−

Pigmentierung und Kulturmorphologie s. Tabelle 2

Ausgenommen davon ist lediglich die 3-Tage Arylsulphatase-Aktivität für M. FORTUITUM, sofern ihr die Methode von Kubica und Vestal (23) zu Grunde gelegt wird.

Diese Analyse der bisherigen Befunde und Beschreibungen der schnellwachsenden Mykobakterien-Spezies zeigt die Schwierigkeiten, denen ihre Differenzierung und Identifizierung unterliegen.

Für die Durchführung eines Vergleiches mit Hilfe dieser Kriterien stehen im wesentlichen zwei Verfahren zur Verfügung:

a) Das eine mögliche Verfahren besteht in dem Vergleich eines möglichst großen "Spektrums" von Eigenschaften der in Frage kommenden Stämme bzw. Spezies. Die von Bönicke (14) aufgestellten Forderungen, daß die für die einzelnen Spezies charakteristischen Spektren konstant sein und möglichst ohne Ausnahme für alle Angehörigen dieser Spezies Gültigkeit haben müssen, zeigen nochmals die oben beschriebenen Schwierigkeiten bei der Anwendung dieser Kriterien. Nach Bönicke (14) bietet die Anwendung entweder der "bunten Reihe" oder des von ihm entwickelten Amidase-Spektrums, nur die Möglichkeit, Hinweise auf die Klassifizierung von Mykobakterien zu erhalten, nicht aber die Möglichkeit, auf Grund eines der beiden Spektren die schnellwachsenden Mykobakterien klassifizieren zu können. Eine einigermaßen sichere Klassifizierung ist seinen Angaben nach nur mit Hilfe der Ergebnisse beider Spektren und noch möglichst vieler weiterer Eigenschaftsprüfungen möglich.

Dieses Verfahren zur Klassifizierung schnellwachsender Mykobakterien legte die Anwendung der von Sneath (25, 26) zur bakteriologischen Differenzierung vorgeschlagenen Adonson'schen Methode nahe. Cerbón und Bojalil (16) wandten diese Methode 1961 erstmals auf Mykobakterien an. Sie beruht auf einem Vergleich der taxonometrisch bestimmten Ähnlichkeit S eines Stammes mit einem anderen Stamm bzw. einer Spezies. Die Ähnlichkeit S ist definiert als das Verhältnis der Anzahl von Eigenschaften, in denen ein Stamm dem anderen bzw. der Spezies gleich ist, zu der Gesamtzahl der verglichenen Eigenschaften, ausgedrückt in Prozent:

$$S = \frac{\text{Anzahl der gleichen Eigenschaften}}{\text{Gesamtzahl der verglichenen Eigenschaften}} \times 100$$

Auch Tsukamura (29, 30) wandte die Adanson'sche Methode 1967 auf einige Mykobakterien-Spezies an. Um einen möglichst hohen Aussagewert über die Ähnlichkeit zu erhalten - der Aussagewert ist im wesentlichen abhängig von der Anzahl und der Art der verglichenen Kriterien - untersuchte er 94 bzw. 101 Eigenschaften seiner Stämme.
Kazda (22) benützte diese Methode zur Klassifizierung der Spezies M. BRUNENSE, und zwar um zu zeigen, daß sich diese von ihm beschriebene Spezies genügend deutlich von allen bisher bekannten Spezies unterscheidet, um als selbständige Spezies bezeichnet werden zu können. Als Minimalgrenze dafür, zwei Spezies als verschiedene Spezies bezeichnen zu können, darf nach ihm die Ähnlichkeit nicht über 85 % liegen. Auch er setzt den Vergleich einer genügend großen Zahl von Eigenschaften für einen akzeptablen Aussagewert voraus - er untersuchte 51 Eigenschaften.

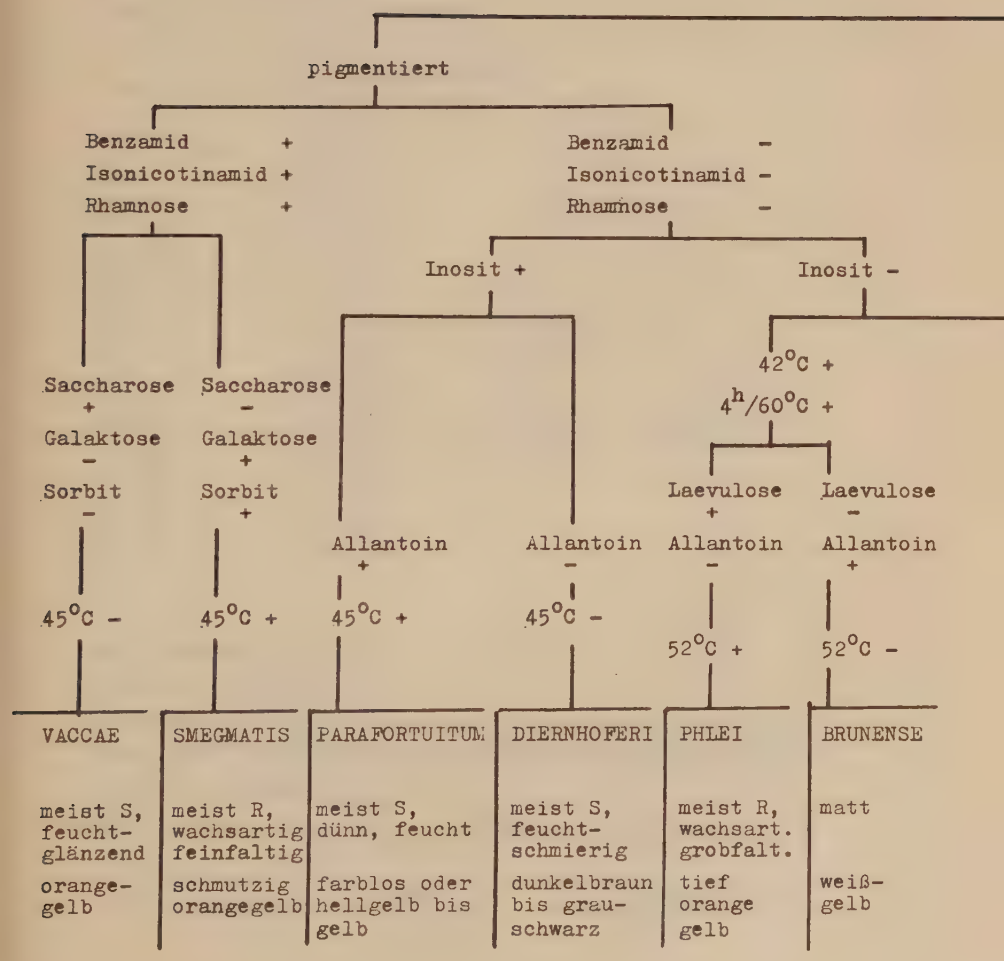
b) Bönicke (14) stellte an Hand einiger Beispiele die Adanson'sche Methode einer Methode gegenüber, die er als Selektionsverfahren bezeichnete. Diesem Selektionsverfahren gibt er dem Adanson'schen Verfahren gegenüber in der Diagnostik den Vorzug, da es "eine ökonomische und in ihren Ergebnissen zufriedenstellende Klassifizierung ermöglicht".
Bei dem Selektionsverfahren benützt man für den "indirekten" Vergleich nur ganz bestimmte Kriterien, und zwar solche, die für die einzelnen Keimarten möglichst spezifisch sind und eine Differenzierung ermöglichen. Cerbón und Bojalil (16) entwickelten bereits 1961 aus den von ihnen ermittelten Vergleichswerten für verschiedene schnellwachsende Mykobakterien einen Diagnostikschlüssel, der eine rasche und einfache Speziesbestimmung erlauben sollte. Er entspricht in etwa dem Prinzip des Selektionsverfahrens von Bönicke (14).

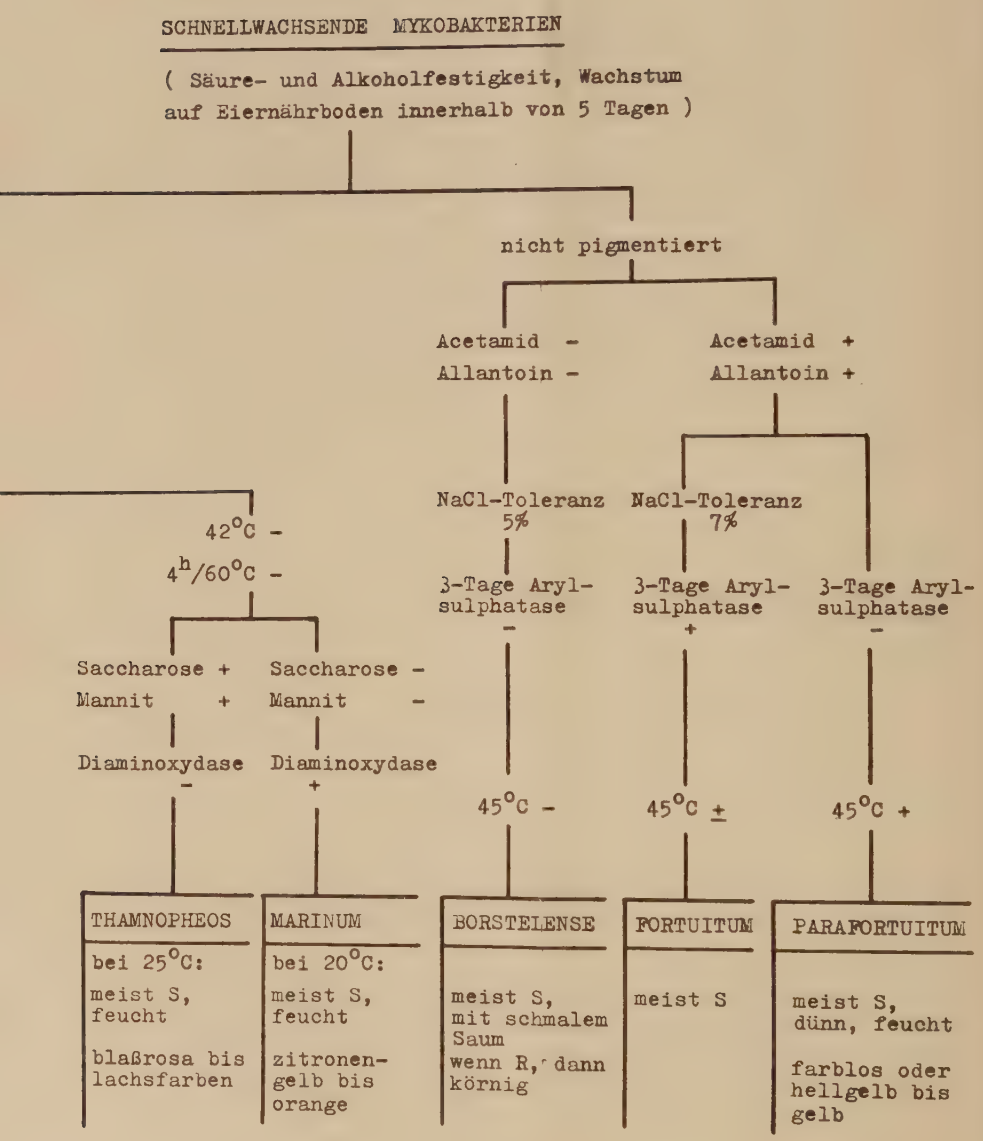
C.) AUFSTELLUNG EINES DIAGNOSTIKSCHLÜSSELS FÜR SCHNELLWACHSENDE MYKOBAKTERIEN

Aus den für die Zusammenstellung der Tabelle 1 verwendeten Speziesbeschreibungen von Bergey's Manual of Determinative Bacteriologie (3), Gordon und Smith (20, 21), Bönicke (9, 10, 11, 12), Tsukamura (29, 30) und Stanford und Gunthorpe (27) sowie den vergleichenden Beschreibungen von Kazda (22), Tsukamura (30), Bönicke (14) und Cerbón und Trujillo (17) habe ich versucht, einen Schlüssel für die Bestimmung schnellwachsender Mykobakterienarten aufzustellen (Tabelle 2). Dieser Schlüssel umfaßt die 10 Spezies M. MARINUM, M. THAMNOPHEOS,

M. FORTUITUM, M. PHLEI, M. SMEGMATIS, M. VACCAE, M. BORSTELENSE, M. DIERNHOFERI, M. PARAFORTUITUM und M. BRUNENSE.
Als Kriterien wurden dazu aus Tabelle 1 diejenigen Kriterien verwendet, in deren Ergebniswerten alle Autoren übereinstimmten und die von ihnen eindeutig als positiv oder negativ bezeichnet wurden. Außerdem wurden die Kulturmorphologie und die Pigmentierung aus den einzelnen Speziesbeschreibungen, sowie aus den Angaben von Bönicke und Stottmeier (11) die NaCl-Toleranz zur Differenzierung von M. BORSTELENSE und M. FORTUITUM berücksichtigt. Die Beschreibung der Pigmentierung beruht auf den Werten, die nach 14tägigem Wachstum auf Eiernährboden unter Lichtexposition ermittelt wurden.

Tabelle 2: Schlüssel zur Differenzierung schnellwachsender Mykobakterien




SCHNELLWACHSENDE MYKOBAKTERIEN
(Säure- und Alkoholfestigkeit, Wachstum auf Eiernährboden innerhalb von 5 Tagen)
nicht pigmentiert
Acetamid -
Allantoin -
Acetamid +
Allantoin +
NaCl-Toleranz 5%
NaCl-Toleranz 7%
3-Tage Aryl-sulphatase -
3-Tage Aryl-sulphatase +
3-Tage Aryl-sulphatase -
45°C -
45°C ±
45°C +
42°C -
4h/60°C -
Saccharose +
Mannit +
Saccharose -
Mannit -
Diaminoxydase -
Diaminoxydase +
THAMNOPHEOS
bei 25°C:
meist S, feucht
blaßrosa bis lachsfarben
MARINUM
bei 20°C:
meist S, feucht
zitronengelb bis orange
BORSTELENSE
meist S, mit schmalem Saum
wenn R, dann körnig
FORTUITUM
meist S
PARAFORTUITUM
meist S, dünn, feucht
farblos oder hellgelb bis gelb

III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

A) Material

Es wurden 81 im Institut isolierte Bakterienstämme untersucht, die auf Grund ihrer Säurefestigkeit in der Ziehl-Neelsen-Färbung und ihrer Wachstumsgeschwindigkeit auf Eiernährböden nach Löwenstein-Jensen bei 37°C den schnellwachsenden atypischen Mykobakterien zugeordnet worden waren.

Die Stämme trugen folgende Bezeichnungen:

S 5	S 26	S 48	S 68
S 6	S 27	S 49	S 69
S 7	S 28	S 50	S 70
S 8	S 29	S 51	S 71
S 9	S 30	S 52	S 72
S 10	S 31	S 53	S 73
S 11	S 32	S 54	S 74
S 12	S 34	S 55	S 75
S 13	S 35	S 56	S 76
S 14	S 36	S 57	S 77
S 16	S 37	S 58	S 78
S 17	S 39	S 59	S 79
S 18	S 40	S 60	S 80
S 19	S 41	S 61	S 81
S 20	S 42	S 62	S 82
S 21	S 43	S 63	S 83
S 22	S 44	S 64	S 84
S 23	S 45	S 65	S 85
S 24	S 46	S 66	S 86
S 25	S 47	S 67	S 87
			S 88

Alle Stämme waren 8 - 12 Monate vor Beginn der Versuche isoliert worden, Stamm S 41 aus Organen eines Zoo-Leoparden, die übrigen Stämme aus Rohmilchproben.
Seit ihrer Isolierung waren die Stämme ausschließlich auf Eiernährböden nach Löwenstein-Jensen gehalten worden.

B) Methodik

Die Stämme wurden auf folgende Eigenschaften untersucht:

1) Wachstum bei 22°C

Es wurde beurteilt auf Löwenstein-Jensen Eiernahrboden nach 14tägiger Inkubation.
Röhrchenverschluß: paraffinierter Zellstoff

2) Wachstumsgeschwindigkeit bei 37°C

Sie wurde auf Löwenstein-Jensen Eiernährboden untersucht. Röhrchenverschluß: Gummistopfen, durchbohrt nach Bartmann.
Reichliches Wachstum innerhalb 3 Tagen wurde als schnelles Wachstum, nach mehr als 7 Tagen als langsames Wachstum beurteilt.

3) Wachstum bei 45°C

Es wurde beurteilt auf Löwenstein-Jensen Eiernährboden nach 14tägiger Inkubation.
Röhrchenverschluß: paraffinierter Zellstoff

4) Koloniemorphologie

Sie wurde auf Löwenstein-Jensen Eiernährboden nach einwöchigem Wachstum bei 37°C beurteilt und als R - "rough" oder S = "smooth" bezeichnet. Die Struktur der R-Stämme wurde noch genauer differenziert. Röhrchenverschluß: Gummistopfen, durchbohrt nach Bartmann.

5) Pigmentierung nach Tageslichtexposition

Sie wurde auf Löwenstein-Jensen Eiernährboden untersucht. Dazu wurden die Stämme zunächst 4 Tage bei 37°C

im Brutschrank inkubiert und anschließend 10 Tage unter Vermeidung direkter Sonnenlichteinstrahlung der natürlichen Raumbeleuchtung ausgesetzt.
Röhrchenverschluß: paraffinierter Zellstoff

6) Pigmentierung nach Wachstum im Dunkeln

Sie wurde beurteilt auf Löwenstein-Jensen Eiernährboden nach 14tägiger Inkubation bei 37°C im Dunkeln. Dabei waren die Röhrchen in lichtundurchlässiges Papier eingewickelt.
Röhrchenverschluß: paraffinierter Zellstoff

7) Wachstum nach 4stündiger Erhitzung auf 60°C

Nach 6tägiger Vorzucht auf Löwenstein-Jensen Eiernährboden wurden die Stämme in eine Bouillon folgender Zusammensetzung überimpft:

0,5 %	Pepton (aus Fleisch)
0,3 %	Fleischextrakt
2,0 %	Glyzerin
	pH : 7,0

Unmittelbar nach der Beimpfung erfolgte die Erhitzung im Wasserbad. Die Beurteilung des Wachstums wurde nach anschließender 14tägiger Inkubation bei 37°C vorgenommen. Als Kontrolle diente eine nichterhitzte, beimpfte Bouillon derselben Zusammensetzung.

8) Wachstum auf gewöhnlichem Nähragar

Die Agar-Platten wurden unter Verwendung der Oxoid Blod Agar Base hergestellt. Sie wurden 7 Tage bei 37°C in einer feuchten Kammer inkubiert.

9) Wachstum auf gewöhnlichem Nähragar unter Zusatz von 5 % NaCl

Methodik und Nährboden wie unter 8.

10) Säurebildung aus Kohlenhydraten

Sie wurde nach zwei Methoden untersucht:

a) Methode nach Tsukamura (30):
16 Kohlenhydrate: Glukose, Rhamnose, Xylose, Arabinose, Mannose, Galaktose, Mannit, Sorbit, Inosit, Dulcit, Laktose, Raffinose, Maltose, Trehalose, Laevulose, Saccharose wurden folgendem Grundsubstrat in einer 0,5%igen Endkonzentration zugefügt:

$(NH_4)_2SO_4$	2,64	g
KH_2PO_4	0,5	g
$MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$	0,5	g
yeast extract	0,2	g
0,2 % Bromthymolblau in 0,02 m NaOH	20,0	ml
purified agar	20,0	g
aqua dest.	980	ml

Die Röhrchen wurden mit paraffiniertem Zellstoff verschlossen und 4 Wochen bei 28°C inkubiert.

b) Zum Verbleich wurde das von Unertl (32) verwendete Grundsubstrat benützt:

K_2HPO_4	1,5	g
KH_2PO_4	0,5	g
NH_4Cl	1,0	g
KCl	0,2	g

$MgCl_2 \cdot 6\ H_2O$	0,2	g
Na_2SO_4 anhyd.	0,2	g
Bacto-Agar (Difco)	17,0	g
Bromkresolpurpur, 4%ige Lösung	15,0	ml
aqua dest.	1 000	ml

Die 16 Kohlenhydrate wurden diesem Grundsubstrat in einer Endkonzentration von 0,1 % zugefügt. Die Röhrchen wurden mit paraffiniertem Zellstoff verschlossen und 4 Wochen bei 37°C inkubiert.

11) Spaltung von Carbonsäureamiden im Amidase-Test nach Bönicke (5, 6, 7, 8)

Es wurden folgende 9 Amide verwendet: Acetamid, Benzamid, Harnstoff, Nicotinamid, Pyrazinamid, Salizylamid, Allantoin, Succinamid, Malonamid.
Die Reaktionszeit betrug 12 - 14 h.
Der Ammoniaknachweis wurde nach der Methode von Russel mit Phenolreagenz durchgeführt.

Die Stämme S 5 bis S 47 wurden noch auf folgende Eigenschaften untersucht:

12) Arylsulphatase-Aktivität

Sie wurde im wesentlichen nach der Methode von Kubica & Vestal (23) in der Modifikation von Blümel (4) geprüft.
Von der Ausgangskultur auf Löwenstein-Jensen Eiernährboden wurde eine Öse voll in eine Bouillon folgender Zusammensetzung geimpft:

1,0 %	Glyzerin
0,88 %	Tween 80
0,5 %	Pepton (aus Fleisch)
0,3 %	Fleischextrakt

pH : 7,0

In dieser Bouillon wurden die Stämme 20 Tage vorgezüchtet. Als Arylsulphat wurde Trikalium-phenolphtalein-disulphat verwendet. Es wurde derselben Bouillon, wie sie zur Vorzucht verwendet wurde, in den zwei Konzentrationen 0,00025 M und 0,002 M (Endkonzentration) zugefügt. Nach der Abfüllung wurden die Röhrchen tyndallisiert.
Das Substrat wurde dann jeweils mit 0,1 ml der gut durchgeschüttelten Vorzuchtbouillon beimpft. Die Röhrchen wurden mit paraffiniertem Zellstoff verschlossen. Nach 3- und nach 6tägiger Inkubation bei 37°C wurde in beiden Konzentrationen durch Hinzufügen von 1,0 ml 1M-Na-carbonat geprüft, ob Phenolphtalein freigeworden war. Die verschiedenen Grade von Enzymaktivität wurden an Hand der Farbstufen folgendermaßen bewertet:

- farblos, keine Enzymaktivität
+1 blass-rosa
+2 rosa
+3 hellrot
+4 rot
+5 tiefrot, stärkste Enzymaktivität

Als Kontrolle wurden die Vorzucht-Bouillon und eine unbeimpfte 6-Tage-0,002 M Arylsulphat-Bouillon verwendet.

13) Diaminoxydase-Aktivität

Sie wurde nach der Methode Bönickes (13) mit Cadaverin-dihydrochlorid geprüft. Die Stämme wurden 5 Tage auf Löwenstein-Jensen Eiernährboden vorgezüchtet. Das Cadaverin-dihydrochlorid wurde in 0,005 molarer Konzentration verwendet, als Puffer $\frac{m}{15}$ Phosphatpuffer pH 7,0. Der Ammoniaknachweis wurde nach 0, 6, 24 und 48stündiger Inkubation bei 37°C mit Neßlers Reagenz durchgeführt.

Verwendete Reagenzien:

Der Löwenstein-Jensen Eiernährboden wurde unter Verwendung der Löwenstein-Medium Base - Jensen (Baltimore Biological Laboratory, Baltimore, Maryland, USA) nach den angegebenen Herstellungsvorschriften hergestellt.

Pepton (aus Fleisch, trocken):	Merck, Darmstadt
Fleischextrakt:	Compagnie Liebig, Antwerpen
Oxoid Blood Agar Base:	Fa. Oxoid
Kohlenhydrate:	Merck, Darmstadt
Yeast extract:	Difco Laboratories, Detroit 1, Michigan, USA
Purified agar:	Difco Laboratories
Bacto-Agar:	Difco Laboratories
Acetamid	Merck, Darmstadt
Benzamid:	Schuchardt, München
Harnstoff:	Merck, Darmstadt
Nicotinamid:	Merck, Darmstadt
Pyrazinamid:	Krugmann & Co., Hamburg
Salicylamid:	C. Roth, Karlsruhe
Allantoin:	Tluka AG, Buchs SG, Schweiz
Succinamid:	Schuchardt, München
Malonamid:	C. Roth, Karlsruhe
Phenol:	Merck, Darmstadt
Tween 80:	Pharma-Zentrale, Witten (Ruhr)
Trikalium-phenolphtalein-disulphat:	L. Light & Co., Ltd. Colnbrook, England
Cadaverin-dihydrochlorid:	Schuchardt, München
Alle übrigen Reagenzien:	Merck, Darmstadt

C) Untersuchungsgang

Die Differenzierung der Stämme wurde einmal mit Hilfe des aus den Literaturangaben zusammengestellten Bestimmungsschlüssels (Tabelle 2) vorgenommen. Gleichzeitig wurde auch ein Vergleich der Gesamtspektren der einzelnen Stämme mit den entsprechenden Spektren der schnellwachsenden Mykobakterien-Spezies durchgeführt. Dazu wurden die in Tabelle 1 zusammengestellten Spektren verwendet, ergänzt durch die Beschreibungen der Pigmentierung und Kulturmorphologie in Tabelle 2. Die Adanson'sche Methode wurde nicht angewandt (s. Besprechung der Ergebnisse).

D) Untersuchungsergebnisse

1) Direkter Vergleich der untersuchten Merkmale:

Die Ergebnisse der Prüfung aller Merkmale der Stämme sind in Tabelle 3 zusammengestellt. Die verwendeten Methoden sind unter III B beschrieben worden. An Besonderheiten war folgendes zu beachten:

a) Säurebildung aus Kohlenhydraten:
Bei der Durchführung dieses Tests nach der Methode Tsukamura's (30) war bei 65 der 81 Stämme nach 4 Wochen die gleiche Farbveränderung auf kohlenhydrathaltigen und kohlenhydratfreien Nährböden (Kontrollen) aufgetreten. In Tabelle 3 sind daher nur Werte enthalten, die mit Hilfe der Methode von Unertl (32) ermittelt wurden.

b) Arylsulphatase-Aktivität:
Die Ergebnisse der 4 positiven Stämme zeigten, daß die 0,00025 M Konzentration etwas zu gering war, um bereits nach 3 Tagen eine gut ablesbare Rotfärbung des Substrats auszulösen. Es wurden daher in der Tabelle nur die Ergebnisse mit der 0,002 M Konzentration berücksichtigt. Diese Ergebnisse waren gut abzulesen.

c) Diaminoxydase-Aktivität:
Die Durchführung nach der angegebenen Methode brachte trotz mehrfacher Versuche keine verwendbaren Ergebnisse.

Erläuterung der Abkürzungen in Tabelle 3:

a) zur Differenzierung der Kulturmorphologie:

a = feuchtglänzend - schmierig
b = feinfaltig
c = grobfaltig
d = körnig

b) zur Bezeichnung der Pigmentierung:

- = farblos (cremefarben)
og = orangegelb
sg = schmutzig orangegelb
m = mennige
r = rot
hb = hellbraun
db = dunkelbraun
gr = grauschwarz

Tabelle 3: Eigenschaften der untersuchten Stämme

Untersuchte Eigenschaften:	Nr. der untersuchten Stämme: 5	6	7	8	9	10	11	12
Wachstum bei 22°C	+	+	+	+	+	+	+	+
Wachstumsgeschw. bei 37°C	+4	+4	+3	+3	+3	+3	+3	+3
Wachstum bei 45°C	-	-	-	-	-	-	-	-
Koloniemorphologie	Rb	Rb	Rb	Rb	Rb	Rb	Rb	Rb
Pigmentierung bei Licht	r	r	m	m	m	m	m	m
Pigmentierung im Dunkeln	+	+	+	+	+	+	+	+
Wachstum nach $4^h/60°C$	+	-	+	+	+	+	+	+
Wachstum auf gew. Agar	+	+	+	+	+	+	+	+
Wachstum auf 5% NaClAgar	-	+	-	-	-	-	-	-
Glukose	+	+	+	+	+	+	+	+
Rhamnose	-	+	-	-	-	-	-	-
Xylose	-	-	-	-	-	-	-	-
Arabinose	-	-	-	-	-	-	-	-
Mannose	+	+	+	+	+	+	+	+
Galaktose	-	-	-	-	-	-	-	-
Mannit	-	+	+	+	+	+	+	-
Sorbit	-	+	+	±	+	+	+	-
Inosit	-	-	-	-	-	-	-	-
Dulcit	-	-	-	-	-	-	-	-
Laktose	-	-	-	-	-	-	-	-
Raffinose	-	-	-	-	-	-	-	-
Maltose	+	-	-	±	±	±	+	+
Trehalose	+	+	+	+	+	+	+	+
Laevulose	+	+	+	+	+	+	+	+
Saccharose	+	+	+	+	+	+	+	+
Acetamid	+	-	+	+	+	+	+	+
Benzamid	-	-	-	-	-	-	-	-
Harnstoff	+	+	+	+	+	+	+	+
Nicotinamid	+	+	+	+	+	+	+	+
Pyrazinamid	+	+	+	+	+	+	+	-
Salicylamid	-	-	-	-	-	-	-	-
Allantoin	+	+	-	-	-	-	-	-
Succinamid	-	-	-	-	-	-	-	-
Malonamid	-	-	-	-	-	-	-	-
3-d Arylsulphatase	-	-	-	-	-	-	-	-
6-d Arylsulphatase	-	-	-	-	-	-	-	-

Fortsetzung Tabelle 3:

Untersuchte Eigenschaften:	Nr. der untersuchten Stämme: 13	14	16	17	18	19	20	21	22	23	24
22°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
37°C	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3
45°C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Morphologie	Rb	Rb	Rb	R	R	R	R	R	R	R	Rd
Pigm.b.Licht	m	m	m	-1)	-1)	-1)	-1)	-1)	-1)	-1)	-
Pigm.i.Dunkeln	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
4h / 60°C	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
gew. Agar	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5% NaClAgar	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-
Glukose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Rhamnose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Xylose	-	-	-	±	-	-	±	-	±	±	-
Arabinose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mannose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Galaktose	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-
Mannit	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Sorbit	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Inosit	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Dulcit	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Laktose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Raffinose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Maltose	+	±	-	+	±	+	+	+	+	+	-
Trehalose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Laevulose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Saccharose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Acetamid	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Benzamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Harnstoff	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nicotinamid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Pyrazinamid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Salicylamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Allantoin	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Succinamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Malonamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3-d Arylsulph.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6-d Arylsulph.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Anmerkung: 1) bei 22°C hellbraune Pigmentierung

Fortsetzung Tabelle 3:

Untersuchte Eigenschaften:	Nr. der untersuchten Stämme: 25	26	27	28	29	30	31	32	34	35	36
22°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
37°C	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+4
45°C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Morphologie	Rd	Rd	Rd	Rd	Rd	Rd	Rd	Rd	Rd	Rd	R
Pigm.b.Licht	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pigm.i.Dunkeln	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4^h / 60°C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
gew. Agar	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5% NaClAgar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glukose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Rhamnose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Xylose	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-
Arabinose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mannose	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-
Galaktose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mannit	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-
Sorbit	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Inosit	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-
Dulcit	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Laktose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Raffinose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Maltose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Trehalose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Laevulose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Saccharose	±	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-
Acetamid	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Benzamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Harnstoff	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nicotinamid	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Pyrazinamid	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Salicylamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Allantoin	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-
Succinamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Malonamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3-d Arylsulph.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6-d Arylsulph.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Fortsetzung Tabelle 3:

Untersuchte Eigenschaften:	Nr. der untersuchten Stämme: 37	39	40	41	42	43	44	45	46	47
22°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
37°C	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3
45°C	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Morphologie	S[1)]	R	S[1)]	R	R	R	S	S	S	R
Pigm.b.Licht	–	–[2)]	–	–	–[2)]	–	–	–	–	gr
Pigm.i.Dunkeln	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
4^h / 60°C	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
gew. Agar	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5% NaClAgar	–	+	–	–	+	–	–	+	+	–
Glukose	+	+	+	+	+	+	–	+	+	+
Rhamnose	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Xylose	+	+	+	–	–	–	–	–	–	±
Arabinose	–	–	–	–	–	+	–	–	+	+
Mannose	+	+	+	+	+	+	–	+	+	–
Galaktose	–	+	–	–	–	±	–	–	±	–
Mannit	+	+	+	–	+	+	–	+	+	+
Sorbit	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–
Inosit	+	–	+	–	+	+	–	+	+	–
Dulcit	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Laktose	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Raffinose	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Maltose	–	+	–	–	–	–	–	±	±	–
Trehalose	+	+	+	+	+	+	–	+	+	+
Laevulose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Saccharose	–	+	–	–	+	–	±	–	–	–
Acetamid	–	+	–	+	+	+	+	+	+	+
Benzamid	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Harnstoff	+	+	+	+	+	+	–	+	+	+
Nicotinamid	+	+	+	–	+	+	–	+	+	+
Pyrazinamid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Salicylamid	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Allantoin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Succinamid	–	–	–	–	–	+	–	+	+	–
Malonamid	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
3-d Arylsulph.	–	–	–	+5	–	+3	–	+4	+5	–
6-d Arylsulph.	–	–	–	+5	–	+5	–	+5	+5	–

Anmerkungen: 1) bei 22°C R-Morphologie, 2) bei 22°C hellbr. Pigm.

Fortsetzung Tabelle 3:

Untersuchte Eigenschaften:	Nr. der untersuchten Stämme: 48	49	50	51	52	53	54	55	56	57
22°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
37°C	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3
45°C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Morphologie	R	Sa	Sa	Sa	Sa	Sa	Sa	Sa	Sa	R
Pigm.b.Licht	gr	gr	hb	-	gr	gr	gr	gr	gr	gr
Pigm.i.Dunkeln	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4^h / 60°C	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
gew. Agar	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5% NaClAgar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glukose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Rhamnose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Xylose	±	+	±	±	+	+	+	+	+	+
Arabinose	+	+	+	±	+	+	+	+	+	+
Mannose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Galaktose	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-
Mannit	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sorbit	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Inosit	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Dulcit	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Laktose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Raffinose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Maltose	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-
Trehalose	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Laevulose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Saccharose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Acetamid	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-
Benzamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Harnstoff	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nicotinamid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pyrazinamid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Salicylamid	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-
Allantoin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Succinamid	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Malonamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Fortsetzung Tabelle 3:

Untersuchte Eigenschaften:	Nr. der untersuchten Stämme: 58	59	60	61	62	63	64	65	66	67
22°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
37°C	+3	+3	+3	+3	+2	+2	+2	+2	+2	+2
45°C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Morphologie	Sa	Sa	Sa	Sa	Sa	Sa	Sa	Sa	Sa	R
Pigm.b.Licht	gr	gr	gr	gr	og	og	og	og	og	og
Pigm.i.Dunkeln	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
4^h / 60°C	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+
gew. Agar	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5% NaClAgar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glukose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Rhamnose	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
Xylose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Arabinose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mannose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Galaktose	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-
Mannit	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sorbit	-	-	-	-	+	+	+	±	±	+
Inosit	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Dulcit	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Laktose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Raffinose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Maltose	-	-	-	-	-	±	+	-	-	-
Trehalose	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+
Laevulose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Saccharose	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+
Acetamid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Benzamid	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
Harnstoff	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nicotinamid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pyrazinamid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Salicylamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Allantoin	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
Succinamid	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+
Malonamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Fortsetzung Tabelle 3:

Untersuchte Eigenschaften:	Nr. der untersuchten Stämme: 68	69	70	71	72	73	74	75	76	77
22°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
37°C	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+2
45°C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Morphologie	Sa	Sa	Sa	R	Sa	Sa	Sa	Sa	Sa	Sa
Pigm.b.Licht	og	og	og	og	og	og	og	og	og	og
Pigm.i.Dunkeln	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4^h / 60°C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
gew. Agar	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5% NaClAgar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glukose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Rhamnose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Xylose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Arabinose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mannose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Galaktose	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Mannit	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sorbit	+	±	+	+	+	+	+	±	+	+
Inosit	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Dulcit	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Laktose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Raffinose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Maltose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Trehalose	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
Laevulose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Saccharose	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
Acetamid	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+
Benzamid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Harnstoff	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nicotinamid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pyrazinamid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Salicylamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Allantoin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Succinamid	+	-	-	+	-	+	+	-	-	+
Malonamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Fortsetzung Tabelle 3:

Untersuchte Eigenschaften:	Nr. der untersuchten Stämme: 78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88
22°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
37°C	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+2
45°C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Morphologie	Sa	Sa	R	Sa	Sa	R	Sa	Sa	R	R	R
Pigm.b.Licht	og	og	og	og	og	sg	og	og	og	og	og
Pigm.i.Dunkeln	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4^h / 60°C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
gew. Agar	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5% NaClAgar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glukose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Rhamnose	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
Xylose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Arabinose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mannose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Galaktose	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Mannit	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sorbit	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Inosit	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+
Dulcit	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Laktose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Raffinose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Maltose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Trehalose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Laevulose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Saccharose	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
Acetamid	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-
Benzamid	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
Harnstoff	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nicotinamid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pyrazinamid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Salicylamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Allantoin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Succinamid	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+
Malonamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

2) Differenzierung und Bestimmung der Stämme

Der Vergleich der Gesamtspektren der 81 Stämme untereinander sowie mit den entsprechenden Spektren der schnellwachsenden Mykobakterien-Spezies, wie sie nach Literaturangaben in Tabelle 1 zusammengestellt sind, ermöglichte die Unterteilung von 76 Stämmen in 6 Gruppen, die sich sowohl untereinander sehr ähnlich waren, als auch insgesamt einer Spezies - mehr oder weniger - zugeordnet werden konnten. 5 Stämme, die sich untereinander und auch von allen anderen Stämmen deutlich unterschieden, konnten keiner Spezies zugeordnet werden. Die Spektren der Stämme dieser verschiedenen Gruppen sind in den Tabellen 4 - 10 zusammengestellt. Für die einzelnen Gruppen wurde jeweils das aus der Literatur bekannte Speziesspektrum beigefügt. Die mit Hilfe des Diagnostikschlüssels erzielten Befunde in den Tabellen 4 - 10 wurden durch Unterstreichung besonders kenntlich gemacht.

Tabelle 4: Stämme der Art M. PHLEI

Eigenschaften:	Nr. der Stämme: 5	7	8	9	10	11	12	13	15	16	Typ.Verhalten von M. phlei
22°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
37°C	+4	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3
45°C	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+
Morphologie	Rb	Rb	Rb	Rb	Rb	Rb	Rb	Rb	Rb	Rb	Rb
Pigm.b.Licht	r	m	m	m	m	m	m	m	m	m	og
Pigm.i.Dunkeln	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
4^h / 60°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
gew. Agar	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
5% NaClAgar	–	–	–	–	–	–	–	+	–	–	
Glukose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±
Rhamnose	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Xylose	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	±
Arabinose	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	±
Mannose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±
Galaktose	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	±
Mannit	–	+	+	+	+	+	–	–	+	+	±
Sorbit	–	+	±	+	+	+	–	–	+	+	±
Inosit	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Dulcit	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Laktose	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Raffinose	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Maltose	+	–	±	±	±	+	+	+	±	–	±
Trehalose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±
Laevulose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Saccharose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–
Acetamid	+	+	+	+	+	+	+	+	–	+	±
Benzamid	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Harnstoff	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nicotinamid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pyrazinamid	+	+	+	+	+	+	–	+	+	+	+
Salicylamid	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Allantoin	+	–	–	–	–	–	–	+	–	–	–
Succinamid	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Malonamid	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
3-d Arylsulph.	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
6-d Arylsulph.	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

Tabelle 4 umfaßt eine Gruppe von 10 Stämmen.
In ihrem makroskopischen Aussehen waren sich diese Stämme gleich. Sie wuchsen bei 37°C in 3-4 Tagen, die Kulturmorphologie konnte als rauh (R), wachsartig und feinfaltig bezeichnet werden, die Pigmentierung von Stamm S 5 als himbeerrot, die der übrigen Stämme als mennigrot, oder auch - was allerdings weniger genau ist - als tieforangegelb. Die himbeerrote Pigmentierung trat bei Stamm S 5 jedoch erst nach einem längeren Stadium auf, in dem die Pigmentierung der mennigroten Pigmentierung der anderen Stämme entsprach. Bei 45°C wuchsen die Stämme nicht, nach 4stündiger Erhitzung auf 60°C wuchsen sie jedoch alle.
Säure bildeten alle aus Glucose, Mannose, Trehalose und Laevulose, 7 Stämme aus Mannit, Sorbit und Maltose. Nicht verwertet wurden Xylose, Arabinose, Galaktose, Inosit, Dulcit, Laktose und Saccharose. Harnstoff und Nicotinamid wurden von allen Stämmen gespalten, Acetamid und Pyrazinamid von 9, Allantoin von 2 Stämmen; nicht gespalten wurden Benzamid, Salicylamid, Succinamid und Malonamid.

Mit Ausnahme des Wachstums bei 45°C, der Verwertung von Saccharose und der Spaltung von Allantoin in 2 Fällen stimmte das Spektrum dieser Stämme mit dem der Spezies M. PHLEI überein.

Bei der Bestimmung nach dem Diagnostikschlüssel zeigte sich mit zwei Ausnahmen, dem Wachstum bei 45°C und der Allantoin-Spaltung der Stämme S 5 und S 13, eine Übereinstimmung mit den Kriterien, die für M. PHLEI charakteristisch sind.

Tabelle 5: Stämme der Art M. THAMNOPHEOS

Eigenschaften:	Nr. der Stämme: 17	18	19	20	21	22	23	39	42	Typ.Verhalten von M. thamnopheos
22°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
37°C	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3
45°C	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Morphologie	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Pigm.b.Licht	–1)	–1)	–1)	–1)	–1)	–1)	–1)	–1)	–1)	+1)
Pigm.i.Dunkeln	–	–	–	–	–	–	–	–	–	
4^h / 60°C	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
gew. Agar	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
5% NaClAgar	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Glukose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Rhamnose	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Xylose	±	–	–	±	–	±	±	+	–	–
Arabinose	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Mannose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Galaktose	+	+	+	+	+	+	+	+	–	±
Mannit	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sorbit	+	+	+	+	+	+	+	+	–	±
Inosit	–	–	–	–	–	–	+	–	+	–
Dulcit	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Laktose	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Raffinose	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Maltose	+	±	+	+	+	+	+	+	–	±
Trehalose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Laevulose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Saccharose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Acetamid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±
Benzamid	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Harnstoff	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nicotinamid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±
Pyrazinamid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±
Salicylamid	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Allantoin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Succinamid	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Malonamid	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
3-d Arylsulph.	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
6-d Arylsulph.	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

Tabelle 5 umfaßt eine Gruppe von 9 Stämmen. Diese Stämme zeigten bei 37°C in 3 Tagen reichliches Wachstum ohne Pigmentierung. Bei 22°C wuchsen sie besser als bei 37°C und bildeten außerdem ein hellbraunes Pigment. Die Kulturmorphologie konnte als rauh bezeichnet werden. Bei 45°C und nach 4stündiger 60°C-Exposition wuchsen sie nicht.
Säure bildeten alle Stämme aus Glucose, Mannose, Galaktose, Mannit, Trehalose, Laevulose und Saccharose, 9 Stämme aus Galaktose und Maltose, 4 aus Xylose und 2 aus Inosit. Nicht verwertet wurden Rhamnose, Arabinose, Dulcit, Laktose und Raffinose.
Acetamid, Harnstoff, Nicotinamid, Pyrazinamid und Allantoin wurden von allen Stämmen gespalten, die übrigen Amide wurden nicht gespalten. Arylsulphatase-Aktivität besaß kein Stamm.

Auf Grund dieses Spektrums wurden die Stämme der Spezies M. THAMNOPHEOS zugeordnet.

Die Bestimmung der Stämme nach dem Diagnostikschlüssel ergab die Übereinstimmung der Stämme mit allen für M. THAMNOPHEOS charakteristischen Kriterien; sie konnten somit auch nach diesem Diagnostik-Verfahren dieser Spezies zugeordnet werden.

Tabelle 6: Stämme der Art M. BORSTELENSE

Eigenschaften:	Nr. der Stämme: 24	25	26	27	28	29	30	31	Typ. Verhalten von M. borstelense
22°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+
37°C	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3
45°C	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Morphologie	Rd	Rd	Rd	Rd	Rd	Rd	Rd	Rd	S/Rd
Pigm.b.Licht	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pigm.i.Dunkeln	-	-	-	-	-	-	-	-	
4h / 60°C	-	-	-	-	-	-	-	-	-
gew. Agar	-	+	+	+	+	+	+	+	+1)
5% NaClAgar	-	-	-	-	-	-	-	-	-1)
Glukose	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Rhamnose	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Xylose	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Arabinose	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mannose	-	-	-	-	+	+	+	+	+
Galaktose	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mannit	-	-	+	+	-	+	+	+	-
Sorbit	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Inosit	-	-	+	+	-	+	+	+	-
Dulcit	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Laktose	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Raffinose	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Maltose	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Trehalose	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Laevulose	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Saccharose	-	±	-	-	±	-	-	-	-
Acetamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Benzamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Harnstoff	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nicotinamid	-	-	+	+	-	+	+	+	+
Pyrazinamid	+	+	+	+	-	+	+	+	+
Salicylamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Allantoin	+	-	+	+	-	-	+	+	-
Succinamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Malonamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3-d Arylsulph.	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6-d Arylsulph.	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Fortsetzung Tabelle 6:

Eigenschaften:	Nr. der Stämme: 32	34	35	37	40	Typ.Verhalten von M. borstelense
22°C	+	+	+	+	+	+
37°C	+3	+3	+3	+3	+3	+3
45°C	-	-	-	-	-	-
Morphologie	Rd	Rd	Rd	S[2)]	S[2)]	S/Rd
Pigm.b.Licht	-	-	-	-	-	-
Pigm.i.Dunkeln	-	-	-	-	-	-
4^h / 60°C	-	-	-	-	-	-
gew. Agar	+	+	+	+	+	+[1)]
5% NaClAgar	-	-	-	-	-	-[1)]
Glukose	+	+	+	+	+	+
Rhamnose	-	-	-	-	-	-
Xylose	+	-	+	+	+	-
Arabinose	-	-	-	-	-	-
Mannose	+	+	+	+	+	+
Galaktose	-	-	-	-	-	-
Mannit	+	+	+	+	+	-
Sorbit	-	-	-	-	-	-
Inosit	+	+	+	+	+	-
Dulcit	-	-	-	-	-	-
Laktose	-	-	-	-	-	-
Raffinose	-	-	-	-	-	-
Maltose	-	-	-	-	-	-
Trehalose	+	+	+	+	+	+
Laevulose	+	+	+	+	+	+
Saccharose	-	-	-	-	-	-
Acetamid	+	-	-	-	-	-
Benzamid	-	-	-	-	-	-
Harnstoff	+	+	+	+	+	+
Nicotinamid	+	+	+	+	+	+
Pyrazinamid	+	+	+	+	+	+
Salicylamid	-	-	-	-	-	-
Allantoin	+	+	+	+	+	-
Succinamid	-	-	-	-	-	-
Malonamid	-	-	-	-	-	-
3-d Arylsulph.	-	-	-	-	-	-
6-d Arylsulph.	-	-	-	-	-	-

Tabelle 6 umfaßt eine Gruppe von 13 Stämmen. Sie zeigten bei 37°C reichliches Wachstum in 3 Tagen ohne Pigmentbildung. Bei 22°C wuchsen alle rauh-körnig, bei 37°C wuchsen die Stämme S 37 und S 40 glatt, alle anderen Stämme zeigten dieselbe Morphologie wie bei 22°C. Diese rauh-körnige Morphologie entsprach genau dem Bild der rauhen Kolonieform, das in der Beschreibung der Spezies M. borstelense von Bönicke und Stottmeier (11) auf Seite 211 abgebildet ist.
Bei 45°C und nach 4stündiger 60°C-Exposition wuchsen die Stämme nicht.
Säure bildeten alle Stämme aus Glucose und Laevulose, 12 Stämme aus Trehalose, 10 aus Mannit und Inosit, 4 aus Xylose, sowie 2 in geringem Maße aus Saccharose. Nicht verwertet wurden Rhamnose, Arabinose, Galaktose, Sorbit, Dulcit, Laktose, Raffinose und Maltose.
Harnstoff wurde von allen Stämmen gespalten, Pyrazinamid von 12, Nicotinamid und Allantoin von 10 und Acetamid von einem Stamm. Benzamid, Salicylamid, Succinamid und Malonamid wurden nicht gespalten.
Auf 5 % NaCl-Agar wuchsen die Stämme nicht, und sie zeigten auch keine Arylsulphatase-Aktivität.

Auf Grund dieses Spektrums konnten die Stämme dieser Gruppe der Spezies M. BORSTELENSE zugeordnet werden.

Nach dem Diagnostikschlüssel stimmten sie ebenfalls mit der Spezies M. BORSTELENSE überein.

Anmerkung zu Tabelle 6: 1) nach Bönicke und Stottmeier (11)

2) bei 22°C R-Morphologie

Tabelle 7: Stämme der Art M. FORTUITUM

Eigenschaften:	Nr. der Stämme: 41	43	45	46	Typ. Verhalten von M. fortuitum
22°C	+	+	+	+	+
37°C	+3	+3	+3	+3	+3
45°C	-	-	-	-	±
Morphologie	R	R	S	S	S
Pigm.b.Licht	-	-	-	-	-
Pigm.i.Dunkeln	-	-	-	-	-
4^h / 60°C	-	-	-	-	-
gew. Agar	+	+	+	+	+
5% NaClAgar	-	-	+	+	+1)
Glukose	+	+	+	+	+
Rhamnose	-	-	-	-	-
Xylose	-	-	-	-	-
Arabinose	-	+	-	+	-
Mannose	+	+	+	+	+
Galaktose	-	±	-	±	-
Mannit	-	+	+	+	±
Sorbit	-	-	-	-	±
Inosit	-	+	+	+	±
Dulcit	-	-	-	-	-
Laktose	-	-	-	-	-
Raffinose	-	-	-	-	-
Maltose	-	-	±	±	-
Trehalose	+	+	+	+	±
Laevulose	+	+	+	+	±
Saccharose	-	-	-	-	-
Acetamid	+	+	+	+	+
Benzamid	-	-	-	-	-
Harnstoff	+	+	+	+	+
Nicotinamid	-	+	+	+	+
Pyrazinamid	+	+	+	+	±
Salicylamid	-	-	-	-	-
Allantoin	+	+	+	+	+
Succinamid	-	+	+	+	±
Malonamid	-	-	-	-	±
3-d Arylsulph.	+	+	+	+	+
6-d Arylsulph.	+	+	+	+	+

Tabelle 7 umfaßt eine Gruppe von 4 Stämmen. Sie zeigten bei 37°C in 3 Tagen reichliches Wachstum ohne Pigmentbildung. Die Stämme S 41 und S 43 wuchsen rauh, S 45 und S 46 glatt. Bei 45°C und nach 4stündiger 60°C-Exposition wuchsen sie nicht. Säure bildeten alle Stämme aus Glucose, Mannose, Trehalose, Laevulose, 3 Stämme aus Mannit und Inosit, sowie 2 aus Arabinose, Galaktose und Maltose. Nicht verwertet wurden Rhamnose, Xylose, Sorbit, Dulcit, Laktose, Raffinose und Saccharose. Acetamid, Harnstoff, Pyrazinamid und Allantoin wurden von allen Stämmen gespalten, Nicotinamid und Succinamid von 3 Stämmen; Benzamid, Salicylamid und Malonamid wurden nicht gespalten. 2 der 4 Stämme wuchsen auf 5 % NaCl-Agar.

Als besonderes Kennzeichen zeigten alle 4 Stämme eine deutliche Arylsulphatase-Aktivität nach 3 Tagen.

Auf Grund dieses Spektrums konnten diese Stämme der Spezies M. FORTUITUM zugeordnet werden. Das Spektrum konnte auch ohne das spezifische Kriterium der Arylsulphatase-Aktivität als charakteristisch bezeichnet werden.

Die Diagnostik nach dem Schlüssel ergab ebenfalls die Übereinstimmung mit allen für M. FORTUITUM charakteristischen Kriterien.

Anmerkung zu Tabelle 7: [1] nach Bönicke und Stottmeier (11)

Tabelle 8: Stämme der Art M. DIERNHOFERI

Eigenschaften:	Nr. der Stämme: 47	48	49	50	52	53	54	Typ.Verhalten vo M. diernhoferi
22°C	+	+	+	+	+	+	+	+
37°C	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3
45°C	-	-	-	-	-	-	-	-
Morphologie	R	R	Sa	Sa	Sa	Sa	Sa	Sa
Pigm.b.Licht	gr	gr	gr	hb	gr	gr	gr	gr
Pigm.i.Dunkeln	-	-	-	-	-	-	-	-
4^h / 60°C	-	-	-	-	-	-	-	-
gew. Agar	+	+	+	+	+	+	+	
5% NaClAgar	-	-	-	-	-	-	-	
Glukose	+	+	+	+	+	+	+	+
Rhamnose	-	-	-	-	-	-	-	-
Xylose	±	±	+	±	+	+	+	+
Arabinose	+	+	+	+	+	+	+	+
Mannose	-	+	+	+	+	+	+	+
Galaktose	-	-	-	-	-	-	-	±
Mannit	+	+	+	+	+	+	+	+
Sorbit	-	-	-	-	-	-	-	-
Inosit	-	±	+	+	+	+	+	+
Dulcit	-	-	-	-	-	-	-	-
Laktose	-	-	-	-	-	-	-	-
Raffinose	-	-	-	-	-	-	-	-
Maltose	-	-	±	-	-	-	-	-
Trehalose	+	-	+	+	+	+	+	±
Laevulose	+	+	+	+	+	+	+	+
Saccharose	-	-	-	-	-	-	-	-
Acetamid	+	+	-	-	+	+	+	±
Benzamid	-	-	-	-	-	-	-	-
Harnstoff	+	+	+	+	+	+	+	+
Nicotinamid	+	+	+	+	+	+	+	+
Pyrazinamid	+	+	+	+	+	+	+	+
Salicylamid	-	-	-	-	+	+	+	-
Allantoin	+	+	+	+	+	+	+	-
Succinamid	-	-	-	-	-	-	-	-
Malonamid	-	-	-	-	-	-	-	-

Fortsetzung Tabelle 8:

Eigenschaften:	Nr. der Stämme: 55	56	57	58	59	60	61	Typ.Verhalten von M. diernhoferi
22°C	+	+	+	+	+	+	+	+
37°C	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3	+3
45°C	-	-	-	-	-	-	-	-
Morphologie	Sa	Sa	R	Sa	Sa	Sa	Sa	Sa
Pigm.b.Licht	gr	gr	gr	gr	gr	gr	gr	gr
Pigm.i.Dunkeln	-	-	-	-	-	-	-	-
4^h / 60°C	-	-	-	-	-	-	-	-
gew. Agar	+	+	+	+	+	+	+	
5% NaClAgar	-	-	-	-	-	-	-	
Glukose	+	+	+	+	+	+	+	+
Rhamnose	-	-	-	-	-	-	-	-
Xylose	+	+	+	+	+	+	+	+
Arabinose	+	+	+	+	+	+	+	+
Mannose	+	+	+	+	+	+	+	+
Galaktose	-	-	-	-	-	-	-	±
Mannit	+	+	+	+	+	+	+	+
Sorbit	-	-	-	-	-	-	-	-
Inosit	+	+	+	+	+	+	+	+
Dulcit	-	-	-	-	-	-	-	-
Laktose	-	-	-	-	-	-	-	-
Raffinose	-	-	-	-	-	-	-	-
Maltose	-	-	-	-	-	-	-	-
Trehalose	+	+	+	+	+	+	+	±
Laevulose	+	+	+	+	+	+	+	+
Saccharose	-	-	-	-	-	-	-	-
Acetamid	+	+	-	+	+	+	+	±
Benzamid	-	-	-	-	-	-	-	-
Harnstoff	+	+	+	+	+	+	+	+
Nicotinamid	+	+	+	+	+	+	+	+
Pyrazinamid	+	+	+	+	+	+	+	+
Salicylamid	+	-	-	-	-	-	-	-
Allantoin	+	+	+	+	+	+	-	-
Succinamid	-	-	-	-	-	-	-	-
Malonamid	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabelle 8 umfaßt eine Gruppe von 14 Stämmen. Alle Stämme zeigten bei 37°C in 3 Tagen üppiges Wachstum. 11 Stämme wuchsen in S-Form, ihre Morphologie konnte am besten mit feuchtglänzend-schmierig bezeichnet werden. 2 Stämme wuchsen in R-Form, 1 Stamm dissoziierte kurz nach Beginn der Versuche von der S-Form in die R-Form (Stamm S 57). Alle Stämme begannen nach etwa 4 Tagen Wachstum ein hellbraunes Pigment zu bilden. Bei Stamm S 50 blieb diese Pigmentation bestehen, bei den anderen Stämmen wurde sie allmählich dunkler, bis nach etwa 14 Tagen der ganze Bakterienrasen grauschwarz gefärbt war. Bei Wachstum im Dunkeln blieb die Pigmentierung aus. Bei 45°C und nach 4stündiger 60°C-Exposition war kein Wachstum zu beobachten.
Säure bildeten alle Stämme aus Glucose, Xylose, Arabinose, Mannit und Laevulose, 13 der 14 Stämme aus Mannose, Inosit und Trehalose. Nicht verwertet wurden Rhamnose, Galaktose, Sorbit, Dulcit, Laktose, Raffinose, Maltose und Saccharose. Harnstoff, Nicotinamid und Pyrazinamid wurden von allen Stämmen gespalten, Acetamid und Allantoin von 12, Salicylamid von 4 Stämmen. Benzamid, Succinamid und Malonamid wurden nicht gespalten.

Aufgrund dieses Spektrums konnten die Stämme eindeutig der Spezies M. DIERNHOFERI zugeteilt werden.

Mit den Kriterien des Diagnostikschlüssels für M. DIERNHOFERI stimmten die Eigenschaften der Stämme bis auf die Allantoin-Spaltung von 12 Stämmen überein.

Tabelle 9: Stämme der Art M. VACCAE

Eigenschaften:	Nr. der Stämme: 62	63	64	65	66	67	68	69	70	Typ.Verhalten von M. vaccae
22°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
37°C	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+3
45°C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Morphologie	Sa	Sa	Sa	Sa	Sa	R	Sa	Sa	Sa	Sa
Pigm.b.Licht	og	og	og	og	og	og	og	og	og	og
Pigm.i.Dunkeln	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
4^h / 60°C	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-
gew. Agar	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
5% NaClAgar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Glukose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Rhamnose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Xylose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Arabinose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±
Mannose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Galaktose	±	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Mannit	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sorbit	+	+	+	±	±	+	+	±	+	-
Inosit	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±
Dulcit	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Laktose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Raffinose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Maltose	-	±	+	-	-	-	-	-	-	-
Trehalose	-	+	+	+	-	+	+	+	+	±
Laevulose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Saccharose	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+
Acetamid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±
Benzamid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Harnstoff	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nicotinamid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pyrazinamid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Salicylamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±
Allantoin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Succinamid	+	+	-	+	-	+	+	-	-	±
Malonamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Fortsetzung Tabelle 9:

Eigenschaften:	Nr. der Stämme: 71	72	73	74	75	76	77	78	79	Typ.Verhalten von M. vaccae
22°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
37°C	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+3
45°C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Morphologie	R	Sa	Sa	Sa	Sa	Sa	Sa	Sa	Sa	Sa
Pigm.b.Licht	og	og	og	og	og	og	og	og	og	og
Pigm.i.Dunkeln	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
4^h / 60°C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
gew. Agar	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
5% NaClAgar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Glukose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Rhamnose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Xylose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Arabinose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±
Mannose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Galaktose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mannit	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sorbit	+	+	+	+	±	+	+	+	+	-
Inosit	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±
Dulcit	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Laktose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Raffinose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Maltose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Trehalose	-	+	+	+	+	+	+	+	+	±
Laevulose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Saccharose	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Acetamid	+	+	+	+	-	-	+	+	-	±
Benzamid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Harnstoff	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nicotinamid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pyrazinamid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Salicylamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±
Allantoin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Succinamid	+	-	+	+	-	-	+	-	+	±
Malonamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Fortsetzung Tabelle 9:

Eigenschaften:	Nr. der Stämme: 80	81	82	84	85	86	87	88	Typ.Verhalten von M. vaccae
22°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+
37°C	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+2	+3
45°C	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Morphologie	R	Sa	Sa	Sa	Sa	R	R	R	Sa
Pigm.b.Licht	og	og	og	og	og	og	og	og	og
Pigm.i.Dunkeln	+	+	+	+	+	+	+	+	
4^h / 60°C	-	-	-	-	-	-	-	-	-
gew. Agar	+	+	+	+	+	+	+	+	
5% NaClAgar	-	-	-	-	-	-	-	-	
Glukose	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Rhamnose	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Xylose	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Arabinose	+	+	+	+	+	+	+	+	±
Mannose	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Galaktose	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mannit	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sorbit	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Inosit	+	+	+	+	+	+	+	+	±
Dulcit	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Laktose	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Raffinose	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Maltose	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Trehalose	+	+	+	+	+	+	+	+	±
Laevulose	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Saccharose	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Acetamid	+	+	+	+	+	+	+	+	±
Benzamid	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Harnstoff	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nicotinamid	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pyrazinamid	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Salicylamid	-	-	-	-	-	-	-	-	±
Allantoin	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Succinamid	+	-	+	+	-	-	+	+	±
Malonamid	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabelle 9 umfaßt eine Gruppe von 26 Stämmen. Alle Stämme zeigten bei 37°C in 2 Tagen üppiges Wachstum. 20 der 26 Stämme wuchsen in S-Form, ihre Morphologie konnte am besten mit feucht-glänzend-schmierig bezeichnet werden; 6 Stämme dissoziierten kurz nach Beginn der Versuche in die R-Form. Sämtliche Stämme waren nach 14 Tagen - auch nach Wachstum im Dunkeln - leuchtend orangegelb pigmentiert. Bei 45°C und nach 4stündiger 60°C-Exposition wuchsen sie nicht.
Säure bildeten alle Stämme aus Glucose, Rhamnose, Xylose, Arabinose, Mannose, Mannit, Sorbit, Inosit, und Laevulose, 23 Stämme aus Trehalose und Saccharose, sowie 2 Stämme auch aus Galaktose und Maltose. Nicht verwertet wurden Dulcit, Laktose und Raffinose.
Benzamid, Nicotinamid, Pyrazinamid, Harnstoff und Allantoin spalteten alle Stämme, 23 außerdem Acetamid und 15 Succinamid. Salicylamid und Malonamid wurden von keinem Stamm gespalten.

Diese Eigenschaften stimmten bis auf die Werte für die Säurebildung aus Sorbit genau mit denen der Spezies M. VACCAE überein.

Bei der Diagnostik mit Hilfe des Schlüssels zeigte sich mit Ausnahme der Verwertung von Sorbit ebenfalls eine Übereinstimmung mit allen Werten, die für M. VACCAE charakteristisch sind.

Tabelle 10: Nicht bestimmbare Stämme:

Eigenschaften:	Nr. der Stämme: 6	36	44	51	83
22°C	+	+	+	+	+
37°C	+4	+4	+3	+3	+2
45°C	-	-	-	-	+
Morphologie	Rb	R	S	Sa	Rc
Pigm.b.Licht	r	-	-	-	sg
Pigm.i.Dunkeln	+	-	-	-	+
4^h / 60°C	-	-	-	+	-
gew. Agar	+	+	-	+	+
5% NaClAgar	+	-	-	-	-
Glukose	+	-	-	+	+
Rhamnose	+	-	-	-	-
Xylose	-	-	-	±	+
Arabinose	-	-	-	±	+
Mannose	+	-	-	+	+
Galaktose	-	-	-	±	+
Mannit	+	-	-	+	+
Sorbit	+	-	-	-	+
Inosit	-	-	-	+	-
Dulcit	-	-	-	-	-
Laktose	-	-	-	-	-
Raffinose	-	-	-	-	-
Maltose	-	-	-	-	-
Trehalose	+	-	-	+	+
Laevulose	+	-	+	+	+
Saccharose	+	-	±	-	-
Acetamid	-	-	+	+	-
Benzamid	-	+	-	-	-
Harnstoff	+	+	-	+	+
Nicotinamid	+	+	-	+	+
Pyrazinamid	+	+	+	+	+
Salicylamid	-	-	-	-	-
Allantoin	+	-	+	+	+
Succinamid	-	-	-	+	-
Malonamid	-	-	-	-	-
3-d Arylsulph.	-	-	-		
6-d Arylsulph.	-	-	-		

Tabelle 10 enthält die 5 Stämme, die nicht bestimmt werden konnten.
Diese Stämme unterschieden sich sowohl untereinander als auch von den vorhergehenden Gruppen deutlich und konnten keiner Spezies zugeordnet werden.

Stamm S 6 zeigte dieselbe Pigmentierung und Kulturmorphologie wie der Stamm S 5, der der Spezies M. phlei zugeordnet wurde. Er unterschied sich jedoch von dieser Spezies, von Stamm S 5 und den übrigen Stämmen dieser Gruppe dadurch, daß er nach 4stündiger 60°C-Exposition nicht wuchs und Rhamnose nicht verwertete.

Die Stämme S 36, S 44 und S 51 konnten weder an Hand des Spektrums noch des Diagnostikschlüssels auch nur annähernd irgendeiner Spezies zugeordnet werden.

Stamm S 83 zeigte in seinem makroskopischen Aussehen und auch in seinem übrigen Spektrum eine große Ähnlichkeit mit M. smegmatis; im Spektrum unterschied er sich jedoch dadurch, daß er Rhamnose und Inosit nicht verwertete, Benzamid spaltete und Succinamid nicht spaltete.
Von den Werten des Diagnostikschlüssels für M. smegmatis unterschied er sich darin, daß er Rhamnose nicht zu verwerten und Benzamid nicht zu spalten vermochte.

Gesamtergebnis:

Die 81 verschiedenen schnellwachsenden Mykobakterien-Stämme ließen sich folgenden Spezies zuordnen:

Mycobacterium	phlei	10 Stämme
"	thamnopheos	9 Stämme
"	borstelense	13 Stämme
"	fortuitum	4 Stämme
"	diernhoferi	14 Stämme
"	vaccae	26 Stämme

5 Stämme konnten nicht bestimmt werden. Sie wurden als Mycobacterium spezies X_1, X_2, X_3, X_4, X_5 bezeichnet.

Das Ergebnis der Differenzierung für die einzelnen Stämme zeigt die folgende Tabelle 13:

Tabelle 10: Gesamtergebnis der Differenzierung

Stamm Nr.:	Spezies:	Stamm Nr.:	Spezies:
S 5	M. phlei	S 16	M. phlei
S 6	M. spezies X_1	S 17	M. thamnopheos
S 7	M. phlei	S 18	M. thamnopheos
S 8	M. phlei	S 19	M. thamnopheos
S 9	M. phlei	S 20	M. thamnopheos
S 10	M. phlei	S 21	M. thamnopheos
S 11	M. phlei	S 22	M. thamnopheos
S 12	M. phlei	S 23	M. thamnopheos
S 13	M. phlei	S 24	M. borstelense
S 14	M. phlei	S 25	M. borstelense

Stamm Nr.:	Spezies:	Stamm Nr.:	Spezies:
S 26	M. borstelense	S 62	M. vaccae
S 27	M. borstelense	S 63	M. vaccae
S 28	M. borstelense	S 64	M. vaccae
S 29	M. borstelense	S 65	M. vaccae
S 30	M. borstelense	S 66	M. vaccae
S 31	M. borstelense	S 67	M. vaccae
S 32	M. borstelense	S 68	M. vaccae
S 34	M. borstelense	S 69	M. vaccae
S 35	M. borstelense	S 70	M. vaccae
S 36	M. spezies X_2	S 71	M. vaccae
S 37	M. borstelense	S 72	M. vaccae
S 39	M. thamnopheos	S 73	M. vaccae
S 40	M. borstelense	S 74	M. vaccae
S 41	M. fortuitum	S 75	M. vaccae
S 42	M. thamnopheos	S 76	M. vaccae
S 43	M. fortuitum	S 77	M. vaccae
S 44	M. spezies X_3	S 78	M. vaccae
S 45	M. fortuitum	S 79	M. vaccae
S 46	M. fortuitum	S 80	M. vaccae
S 47	M. diernhoferi	S 81	M. vaccae
S 48	M. diernhoferi	S 82	M. vaccae
S 49	M. diernhoferi	S 83	M. spezies X_5
S 50	M. diernhoferi	S 84	M. vaccae
S 51	M. spezies X_4	S 85	M. vaccae
S 52	M. diernhoferi	S 86	M. vaccae
S 53	M. diernhoferi	S 87	M. vaccae
S 54	M. diernhoferi	S 88	M. vaccae
S 55	M. diernhoferi		
S 56	M. diernhoferi		
S 57	M. diernhoferi		
S 58	M. diernhoferi		
S 59	M. diernhoferi		
S 60	M. diernhoferi		
S 61	M. diernhoferi		

IV. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Die Untersuchung der 81 Stämme hatte das Ziel, sie zu differenzieren und soweit wie möglich zu diagnostizieren.

Die Differenzierung der Stämme ergab 6 Gruppen von Stämmen, deren Spektren untereinander nahezu gleich sind. Die Abweichungen innerhalb einer Gruppe und der gesamten Gruppe gegenüber dem Spektrum der ihr ähnlichsten Spezies lassen sich in zwei verschiedene Arten trennen:

Abweichungen, die bei der entsprechenden Spezies als variabel (±) beschrieben sind.

Abweichungen in Werten, für die bei der entsprechenden Spezies bisher nur ein eindeutig positiv (+) oder negativer (-) Ergebniswert beschrieben ist.

Der Versuch, Stämme, deren Spektrum derartige Abweichungen enthält, zu diagnostizieren, erhebt die Frage, inwieweit diese Werte berücksichtigt werden müssen. Dazu muß zunächst untersucht werden, woher diese Abweichungen kommen können, d. h. warum eine Spezies in einer Eigenschaft variable Werte zeigen kann. Dies kann vor allem drei mögliche Ursachen haben:

1. die verschiedene Methodik zur Prüfung desselben Kriteriums, die Ablesbarkeit oder die Ablesung;
2. das Kriterium an sich, wie z. B. zu kleine Temperaturintervalle;
3. die Mykobakterien selbst, von denen Eichbaum (19) sagt, daß "das Charakteristikum dieser ganzen Gruppe ihr uncharakteristisches Verhalten, d. h. ihre große Anpassungsfähigkeit an äußere Bedingungen ist"; dazu wäre noch die Möglichkeit der Dissoziation und Mutation hinzuzufügen.

Die erste Ursache für variable Werte ließe sich noch "relativ einfach" durch eine Normierung der Methodik und ihre exakte Durchführung abstellen.
Die zweite abzustellen, könnte dadurch versucht werden, daß man nach besseren Kriterien sucht, was allerdings nicht ganz einfach ist.
Gegen die dritte Ursache läßt sich jedoch nichts machen. Variable Werte innerhalb einer Spezies werden immer auftreten.

Geht man davon aus, daß variable Werte innerhalb eines Spektrums für eine Bestimmung unbrauchbar sind, andererseits von den verschiedenen Autoren (9, 10, 11, 12, 14, 20, 21, 22, 27, 29, 30, 31) Stämme trotz verschiedener Abweichungen einer Spezies zugeordnet wurden, so ergibt sich die Folgerung, daß sich die bisherige Klassifizierung und Diagnostik schon immer auf signifikante Einzelkriterien stützte, und auch logischerweise stützen muß. Auch die Spektren der untersuchten 81 Stämme zeigten, daß eine Bestimmung nur unter Vernachlässigung gewisser Abweichungen möglich ist. Diese Tatsache, daß sich die Klassifizierung und Diagnostik mit Hilfe von Spektren zuletzt immer auf signifikante Einzelwerte stützen muß, sowie nicht zuletzt auch arbeitstechnisch-ökonomische Gesichtspunkte, die in der Routinediagnostik zu berücksichtigen sind, sprechen für eine von vornherein auf signifikante Einzelwerte gestützte Diagnostik und damit für das Selektionsverfahren. Dazu ist ein einfacher Diagnostikschlüssel brauchbar, wie er in Tabelle 2 zusammengestellt ist.
Die Gegenüberstellung der Anwendung der beiden Bestimmungsverfahren zeigte, daß die Diagnostik mit Hilfe des Schlüssels dem Vergleich der Gesamtspektren durchaus ebenbürtig ist. Mit gleichen Abweichungen in den Spektren von Stämmen ist bei beiden Verfahren zu rechnen. Ein Diagno-

stikschlüssel bietet den Vorteil, von dem Ballast der variablen Werte möglichst frei und arbeitstechnisch einfacher und rationeller zu sein. Mit folgenden Kriterien lassen sich die bekannten Spezies erfassen:

Wachstum und Pigmentierung bei 22°C
Wachstumsgeschwindigkeit, Kulturmorphologie und Pigmentierung auf Eiernährboden bei 37°C
Wachstum bei 42°C
Wachstum bei 45°C
Wachstum nach 4stündiger 60°C-Exposition
Säurebildung aus Rhamnose
Galaktose
Mannit
Sorbit
Inosit
Fruktose
Saccharose
Spaltung von Acetamid
Benzamid
Isonicotinamid
Allantoin
3-Tage-Arylsulphatase-Aktivität

Die Nachteile, die dieser Methode derzeit noch anhaften - sie betreffen allerdings den Vergleich der Gesamtspektren genauso - , sind die wenig objektiven Kriterien der Pigmentierung und Kulturmorphologie und die Frage der tolerierbaren Abweichungen in Einzelwerten.

Diese Nachteile können auch durch die Adanson'sche Methode nicht völlig beseitigt werden. Sie ermöglicht zwar den kleinstmöglichen und einfachsten Aussagewert über die Ähnlichkeit, aber auch mit ihr gelingt die Einordnung aller Stämme in das entsprechende taxonomische System nicht, und außerdem ist sie für den Routinebetrieb viel zu aufwendig.

Wie für die Methode des Vergleichs von Spektren gilt für die Adanson'sche Methode noch sehr viel mehr die Forde-

rung Bönicke's (14), daß die für die einzelnen Spezies charakteristischen Spektren konstant sein und möglichst ohne Ausnahme für alle Angehörigen dieser Spezies gelten müssen. Ob mit variablen Werten im Grunde im Bereich der Taxonomie eine exakte mathematisch-statistische Auswertung vorgenommen werden kann, erscheint fraglich.

Zweifellos ist der vorgeschlagene Diagnostikschlüssel nur ein Versuch, die Routinediagnostik der schnellwachsenden Mykobakterien zu erleichtern. Seine Anwendung in der Praxis und an einer größeren Zahl von Stämmen wird zeigen, ob und welche Ergänzungen nötig werden. Von ausschlaggebender Bedeutung wird auf jeden Fall eine Standardisierung und Vereinheitlichung der Untersuchungsmethodik sein.

V. ZUSAMMENFASSUNG

1. Insgesamt 81 schnellwachsende Mykobakterienstämme wurden auf ihre Spezieszugehörigkeit geprüft. Dazu wurden sie auf folgende Eigenschaften untersucht:

   Wachstum bei 22°C
   Wachstumsgeschwindigkeit bei 37°C
   Wachstum bei 45°
   Koloniemorphologie
   Pigmentierung nach Tageslichtexposition
   Pigmentierung nach Wachstum im Dunkeln
   Wachstum nach 4stündiger Erhitzung auf 60°C
   Wachstum auf gewöhnlichem Nähragar
   Wachstum auf gewöhnlichem Nähragar unter Zusatz von 5 % NaCl
   Säurebildung aus Kohlenhydraten
   Spaltung von Carbonsäureamiden
   Arylsulphatase-Aktivität
   Diaminoxydase-Aktivität

2. Die Differenzierung brachte als Ergebnis die Zuordnung zu folgenden Spezies:

Mycobacterium	phlei	10	Stämme
"	thamnopheos	9	"
"	borstelense	13	"
"	fortuitum	4	"
"	diernhoferi	14	"
"	vaccae	26	"

   5 Stämme konnten nicht bestimmt werden.

3. Für die Routinedifferenzierung schnellwachsender Mykobakterien wird ein Diagnostikschlüssel, der signifikante Merkmale berücksichtigt, angegeben.

S U M M A R Y

1. It was tried to identify 81 strains of rapid-growing mycobacteria.
   This was done by testing the following characters:

   Growth at 22°C
   Growth rate at 37°C
   Growth at 45°C
   Colony morphology
   Pigmentation after exposure to light
   Pigmentation after growth in the dark
   Survival at 60°C for 4 hr
   Growth on agar medium
   Growth on agar medium with 5 % NaCl
   Acid from carbohydrates
   Decomposition of amides
   Arylsulphatase activity
   Diaminoxydase activity

2. The following results were obtained:

Mycobacterium	phlei	10	strains
"	thamnopheos	9	"
"	borstelense	13	"
"	fortuitum	4	"
"	diernhoferi	14	"
"	vaccae	26	"

   5 strains could not be identified.

3. A diagnostic key based on significant characters is described for routine differentiation of rapid-growing mycobacteria.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

1. Bergey — Bergey's Manual of Determinative Bacteriologie
   7th ed. 1957

2. Aronson, J.D. — Spontaneous tuberculosis in salt water fish
   J. inf. Dis. 39, 315 (1926)

3. Aronson, J.D. — Spontaneous tuberculosis in snakes N. Sp. Mycobacterium thamnopheos
   J. inf. Dis. 44, 215 (1929)

4. Blümel, U. — Untersuchungen über die Differenzierung aviärer und aviumähnlicher Mykobakterien mit Hilfe des Arylsulphatase-Nachweises
   Vet. Med. Diss. München 1963

5. Bönicke, R. und Lisboa, B.P. — Über das Vorkommen von Acylamidasen in Mycobacterien. I. Mitteilung: Desamidierung aromatischer und aliphatischer Carbonsäureamide.
   Zbl. Bakt. I. Orig. 175, 403 (1959)

6. Bönicke, R., Dittmer, W. und Lisboa, B.P. — Über das Vorkommen von Acylamidasen in Mycobacterien. II. Mitteilung: Über den enzymatischen Abbau von Harnstoff.
   Zbl. Bakt. I. Orig. 177, 380 (1960)

7. Bönicke, R. — Über das Vorkommen von Acylamidasen in Mycobacterien. III. Mitteilung: Der enzymatische Abbau von Allantoin.
   Zbl. Bakt. I. Orig. 178, 186 (1960)

8. Bönicke, R. — Über das Vorkommen von Acylamidasen in Mycobacterien. IV. Mitteilung: Die Differenzierung schnellwachsender Mycobacterien der Spezies M. smegmatis, M. phlei, M. fortuitum, und M. thamnopheos durch Nachweis ihrer unterschiedlichen acylamidatischen Stoffwechselleistungen
Zbl. Bakt. I. Orig. 179, 209 (1960)

9. Bönicke, R. und Juhasz, S.E. — Beschreibung einer neuen Spezies: Mycobacterium vaccae
Zbl. Bakt. I. Orig. 192, 132 (1964)

10. Bönicke, R. — Beschreibung einer neuen Spezies: Mycobacterium borstelense
Zbl. Bakt. I. Orig. 196, 535 (1965)

11. Bönicke, R. und Stottmeier, D. — Erkennung und Identifizierung von Stämmen der Spezies Mycobacterium borstelense
Beitr. Klin. Tuberk. 130, 210 (1965)

12. Bönicke, R. und Juhasz, S.E. — Beschreibung einer neuen Spezies: Mycobacterium diernhoferi
Zbl. Bakt. I. Orig. 197, 292 (1965)

13. Bönicke, R. und Nolte, H. — Diaminoxydasen in Mycobacterien
Zbl. Bakt. I. Orig. 202, 479 (1965)

14. Bönicke, R. — Derzeitiger Stand der Klassifizierung atypischer Mykobakterien mit biochemischen Methoden
Zeitschr. f. Tuberk. 127, 13 (1967)

15. Bojalil, L.F. — Comparative study of mycobacterium marinum and mycobacterium balnei
Am. Rev. of Resp. Dis. 82, 455 (1960)

16. Cerbón, J. und Bojalil, L.F. — Physiological relationhips of rapidly growing mycobacteria - Adansonian Classification
J. gen. Microbiol. 25, 7 (1961)

17. Cerbón, J. und Trujillo, A. — A comparison of methods for the classification of mycobacteria. Utilisation of carbon sources and deamidase tests.
Am. Rev. of Resp. Dis. 88, 546 (1963)

18. Cruz, J.C. — Mycobacterium fortuitum un novo bacilo acidoresistente patogenico pava o homen.
Acta Med. Rio de Jan. 1, 297 (1938)

19. Eichbaum, F. — Die tubercelbacillen-ähnlichen, säurefesten Saprophyten
Ergebnisse d. Hygiene 14, 82 (1933)

20. Gordon, R.E. und Smith, M.M. — Rapidly growing acid fast bacteria. I. Species description of M. phlei (Lehmann und Neumann) and M. smegmatis (Trevisan, Lehmann und Neumann)
J. Bact. 66, 41 (1953)

21. Gordon, R.E. und Smith, M.M. — Rapidly growing acid fast bacteria. II. Species description of M. fortuitum Cruz.
J. Bact. 69, 502 (1955)

22. Kazda, J. — Mykobakterien im Trinkwasser als Ursache der Parallergie gegenüber Tuberkulinen bei Tieren. III. Mitteilung:

Taxonomische Studie einiger raschwachsender Mykobakterien und Beschreibung einer neuen Art: Mycobacterium brunense n. sp.

Zbl. Bakt. I. Orig. 203, 199 (1967)

23. Kubica, G.P. und Vestal, A.I. — The arylsulfatase activity of acid-fast bacilli.
I. Investigation of activity of stock cultures of acid-fast bacilli.

Am. Rev. of Resp. Dis. 83, 728 (1961)

24. Küster, E. — Über Kaltblütertuberkulose

Münch. Med. Wochenschr. 52, 57 (1905)

25. Sneath, P.H.A. — Some thoughts on bacterial classification

J. gen. Microbiol. 17, 184 (1957)

26. Sneath, P.H.A. — The application of computers to taxonomy.

J. gen. Microbiol. 17, 201 (1957)

27. Stanford, J.L. und Gunthorpe, W.J. — Serological and bacteriological investigation of Mycobacterium ranae (fortuitum)

J. Bact. 98, 375 (1969)

28. Szabó, I. und Vandra, E. — Mycobacterium minetti (Penso et al. 1952) bacteriological and epidemiological observations.

Acta Microbiol. 10, 215 (1963)

29. Tsukamura, M. — Mycobacterium parafortuitum: A new species

J. gen. Microbiol. 42, 7 (1966)

30. Tsukamura, M. Adansonian classification of mycobacteria
J. gen. Microbiol. 45, 253 (1966)

31. Tsukamura, M.
Tsukamura, S.
Mizuno, S. Numerical taxonomy of Mycobacterium fortuitum.
Japan. J. Microbiol. 11, 243 (1967)

32. Unertl, B. Untersuchungen über das Vorkommen von Mykobakterien in Rohmilch.
Vet. Med. Diss. München 1969

Zum Schluß meiner Arbeit möchte ich Herrn Professor Dr. A. M a y r und Herrn Professor Dr. Th. S c h l i e s s e r für die freundliche Überlassung des Themas danken.

Besonderen Dank schulde ich Herrn Professor Dr. Th. S c h l i e s s e r für seinen wertvollen Rat und seine jederzeit bereitwilligst gewährte Unterstützung.

Lebenslauf

Am 2. Juni 1944 wurde ich, Günter Staudacher, als Sohn des Kaufmanns Anton Staudacher und seiner Ehefrau Wilhelmine, geb. Nennig, in Wangen im Allgäu geboren.

Nach dem Besuch der Volksschule in Weingarten/Württemberg von 1950 - 1954 trat ich in das Spohn-Gymnasium in Ravensburg ein. Dort erhielt ich am 5. März 1963 das Reifezeugnis.

Im Sommersemester 1963 nahm ich das Studium der Veterinärmedizin an der Universität München auf und beendete es am 12. Dez. 1968 mit dem Staatsexamen. Unmittelbar anschließend begann ich am Institut für Mikrobiologie und Infektionskrankheiten der Tiere in München mit der Arbeit an der vorliegenden Dissertation.